

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240911004

云南金花茶主成分提取条件优化及高效液相色谱指纹图谱分析

徐芳华¹, 张颖君², 唐军荣¹, 阚 欢¹, 张贵良³, 赵 平¹, 刘 云^{1*}

(1. 西南林业大学生物与食品工程学院, 昆明 650224; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650201; 3. 云南大围山国家级自然保护区河口管理分局, 河口 661399)

摘 要: **目的** 建立 19 批不同产地、不同采摘时间的云南金花茶的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)指纹图谱, 并进行主成分分析。**方法** 以 100%甲醇为提取溶剂, 超声 30 min, 料液比为 1:15 g/mL, 进样量为 10 μ L, 流动相系统为乙腈-0.5%甲酸水, 梯度洗脱, 流速为 0.5 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 通过相似度评价、聚类分析及主成分分析对指纹图谱进行分析。**结果** 方法学考察结果表明提取溶剂具有良好的稳定性, 19 批云南金花茶样品相似度符合要求, 聚类分析及主成分分析将云南金花茶分为 6 类。**结论** 建立不同产地、不同采摘时间的云南金花茶指纹图谱所用方法稳定, 为云南金花茶的质量评价及药效研究提供依据。

关键词: 云南金花茶; 条件优化; 指纹图谱; 高效液相色谱法; 聚类分析; 主成分分析

Optimization of extraction conditions and high performance liquid chromatography fingerprint analysis of the main components of *Camellia fascicularis*

XU Fang-Hua¹, ZHANG Ying-Jun², TANG Jun-Rong¹, KAN Huan¹,
ZHANG Gui-Liang³, ZHAO Ping¹, LIU Yun^{1*}

(1. College of Biological Science and Food Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 3. Hekou Management Sub-bureau of Yunnan Daweishan National Nature Reserve, Hekou 661399, China)

ABSTRACT: Objective To establish the high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints of 19 batches of *Camellia fascicularis* from different producing areas and picking times, and analyze principal component analysis. **Methods** The extraction solvent was 100% methanol; the ultrasonic time was 30 min, the solid-liquid ratio was 1:15 g/mL, the conditions of sample size was 10 μ L, mobile phase system consisting was acetonitrile-0.5% formic acid water, gradient elution, the flow rate was 0.5 mL/min, detection wavelength was 254 nm and column

基金项目: 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才专项(XDYC-QNRC-2022-0222)、云南省农业基础研究联合专项(202101BD070001-045)

Fund: Supported by the Young Talent of “Xingdian Talent Support Program” in Yunnan Province (XDYC-QNRC-2022-0222), and the Joint Special Project of Agricultural Basic Research in Yunnan Province (202101BD070001-045)

***通信作者:** 刘云, 博士, 教授, 主要研究方向为植物资源利用。E-mail: liuyun0402001@163.com

***Corresponding author:** LIU Yun, Ph.D, Professor, College of Biological Science and Food Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China. E-mail: liuyun0402001@163.com

temperature of 30 °C. The fingerprint was analyzed by similarity evaluation, hierarchical cluster analysis and principal component analysis. **Results** The results of the methodological investigation showed that the extraction solvent had good stability, and the similarity of 19 batches of *Camellia fascicularis* met the requirements. The *Camellia fascicularis* were divided into 6 categories by hierarchical cluster analysis and principal component analysis. **Conclusion** The method used to establish the fingerprint of *Camellia fascicularis* from different producing areas and picking times is stable, which provides a basis for the quality evaluation and pharmacodynamic study of *Camellia fascicularis*.

KEY WORDS: *Camellia fascicularis*; condition optimization; fingerprints; high performance liquid chromatography; hierarchical cluster analysis; principal component analysis

0 引言

云南金花茶(*Camellia fascicularis*)又名云南显脉金花茶或簇蕊金花茶,为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)植物,其主要分布在我国个旧、马关及河口等地^[1-3]。金花茶有着“植物界的大熊猫”“茶族皇后”之称,是我国的珍稀保护植物^[4]。云南金花茶是金花茶组植物之一,其除含有黄酮、多酚、皂苷等成分外,还含有多种营养成分^[5-9],具有抗癌、抗衰老、抗氧化、抗心血管疾病及抗糖尿病等功能^[10-14]。研究表明云南金花茶提取物具有抗氧化作用,且其抗氧化能力与皂苷的含量显著相关^[15],GAO等^[16]研究表明云南金花茶多酚能与炎症相关的核心靶点相结合从而抑制炎症的产生。作为一种新资源食品,目前已开发的金花茶产品有花茶、浓缩液、茶饮料等^[17-19],此外,其还可应用于化妆领域^[20],具有广阔的市场前景。

高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)在物质分析检测中占有重要地位,因其较高的灵敏度和效率以及能较快地反映物质的种类及数量,指纹图谱的应用越发广泛,其常用于药品及食品的鉴定和质量检测当中^[21-22]。HPLC是检测茶叶的重要手段,其能有效地对已知成分进行确定及鉴定微量成分,为茶叶的质量鉴定提供依据^[23]。作为金花茶组植物之一的云南金花茶,目前的研究主要集中在生物活性成分及其功能等方面^[24-26],然而关于其品质评价方面的指纹图谱研究鲜有报道。本研究通过对云南金花茶主成分的提取条件及色谱条件进行优化,建立不同产地不同采摘时间的云南金花茶指纹图谱,运用聚类分析法(hierarchical cluster analysis, HCA)和主成分分析法(principal component analysis, PCA)对 19 批次云南金花茶的化学成分含量差异进行了分析,为云南金花茶的质量控制及药效研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

云南金花茶的采摘时间为 2020 年 6—8 月,将 19 批

次鲜样于 45 °C 干燥后粉碎过筛制得茶粉并避光保存。

甲醇、乙醇、乙酸(分析纯,广东光华科技股份有限公司);甲酸(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);芦丁(分析纯,上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

BT22S 万分之一电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);SB25-12DTDS 型超声波清洗机(宁波新艺超声设备有限公司);Agilent1260 型高效液相色谱仪、AgilentZORBAXSB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(美国 Agilent 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品溶液的制备

将云南金花茶烘干粉碎,过 60 目筛后制得云南金花茶样品。准确称取 1.0 g 云南金花茶样品,并添加 15 mL 100%甲醇超声提取 30 min。待溶液冷却至室温后,加入 100%甲醇定容,摇匀待用。将备用溶液经 0.45 μm 滤膜过滤,在样品瓶中装入 1 mL 滤液,得到待测样品溶液。

1.3.2 提取条件的优化

提取方法:按 1:15 g/mL 的料液比,添加 1.0 g 云南金花茶样品和 15 mL 100%甲醇,进行超声提取和加热回流提取各 30 min,待溶液冷却至室温,加入 100%甲醇定容,摇匀备用。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤,在样品瓶中装入 1 mL 滤液,得到待测样品溶液,在 HPLC 中进样检测选取最佳提取方式。

提取溶剂:按 1:15 g/mL 的料液比,添加 1.0 g 云南金花茶样品和 7 种不同提取溶剂各 15 mL(纯水、50%乙醇、75%乙醇、100%乙醇、50%甲醇、75%甲醇、100%甲醇),超声提取 30 min,待溶液冷却至室温,加入提取溶剂定容,摇匀备用。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤,在样品瓶中装入 1 mL 滤液,得到待测样品溶液,在 HPLC 中进样检测选取最佳提取溶剂。

料液比:在 3 个容量瓶中,分别添加 1.0 g 云南金花茶样品和不同体积的 100%甲醇(10、15、20 mL),超声提取

30 min, 待溶液冷却至室温, 加入 100% 甲醇溶液定容, 摇匀备用。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 在样品瓶中装入 1 mL 滤液, 得到待测样品溶液, 在 HPLC 中进样检测选取最佳料液比。

超声时间: 按 1:15 g/mL 的料液比, 添加 1.0 g 云南金花茶样品及 15 mL 100% 甲醇, 在不同超声时间(20、30、40、50、60 min)下提取, 待溶液冷却至室温, 加入 100% 甲醇定容, 摇匀备用。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 在样品瓶中装入 1 mL 滤液, 得到待测样品溶液, 在 HPLC 中进样检测选取最佳超声时间。

1.3.3 色谱条件的优化

按 1:15 g/mL 的料液比, 添加 1.0 g 云南金花茶样品和 15 mL 100% 甲醇, 超声提取 30 min, 待溶液冷却至室温, 加入 100% 甲醇溶液定容, 摇匀备用。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 在样品瓶中装入 1 mL 滤液, 得到待测样品溶液。考察在不同的进样量(5、10、15 μL)、流动相组成(甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水、甲醇-0.5% 甲酸水、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水、乙腈-0.5% 甲酸水、乙腈-0.1% 乙酸水、乙腈-0.5% 乙酸水)、洗脱程序(洗脱程序 I、洗脱程序 II、洗脱程序 III)、检测波长(220、254、280、310、340、365、380 nm)、洗脱流速(0.5、0.7、0.9、1.1 mL/min)以及柱温(30、35、40 $^{\circ}\text{C}$)等色谱条件下样品的 HPLC 出峰情况。HPLC 分析在 Agilent 1260 系列液相色谱仪系统上进行, 该系统检测器为二极管阵列检测器, 以 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm) 为色谱柱进行分析。

1.3.4 参照峰的选择

在容量瓶中添加 1.0 mg 芦丁和 25 mL 100% 甲醇, 将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 制得芦丁对照品溶液。将溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 在样品瓶中装入 1 mL 滤液, 得到待测样品溶液, 在 HPLC 中进样考察芦丁对照品的出峰情况。

1.3.5 指纹图谱的方法学考察

精密度: 在优化后的色谱条件下, 将云南金花茶样品溶液连续进样 5 次, 获得图谱, 以芦丁为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间(relative retention time, RRT)与相对峰面积(relative peak area, RPA)的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

稳定性: 将云南金花茶按照“1.3.2”优化后的方法制得云南金花茶样品溶液, 在优化后的色谱条件下, 选择时长为 0、2、4、8、16、24 h, 获得图谱, 以芦丁为参照峰, 计算共有峰的 RRT 与 RPA 的 RSD 值。

重复性: 将云南金花茶样品, 按照优化后的“1.3.2”的方法平行制备 5 份样品溶液, 在优化后的色谱条件下, 检测获得图谱, 以芦丁为参照峰, 计算共有峰的 RRT 与 RPA 的 RSD 值。

1.4 数据处理

通过《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》对 19 批

云南金花茶样品确认共有峰、建立对照图谱并进行相似度评价, 采用 SPSS 24.0 软件对 19 批云南金花茶样品进行聚类分析和主成分分析, 利用 Origin 2021 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 提取条件的选择和优化

2.1.1 提取方式的选择

如图 1 所示, 在相同的提取条件下, 两种提取方法的图谱及提取出的物质种类较为相似, 但超声提取法提取率更高, 成分种类更多, 且超声法提取操作更简捷, 效率高, 因此选择超声提取法为提取方式进行后续试验。

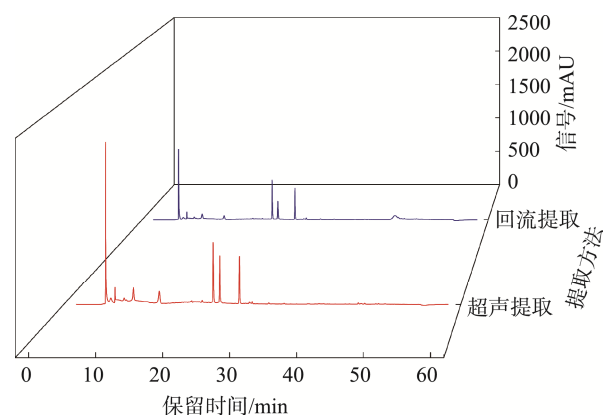


图 1 不同提取方法的选择

Fig.1 Selection of different extraction methods

2.1.2 提取溶剂的选择

选择以超声提取法为提取方式, 比较不同提取溶剂对云南金花茶成分提取的影响, 由图 2 可知, 不同提取溶剂提取出的成分种类大致相同, 但提取率有较大差异, 当进样量相同时 100% 甲醇提取率最高, 且分离效果最好, 因此选择 100% 甲醇作为提取溶剂进行后续试验。

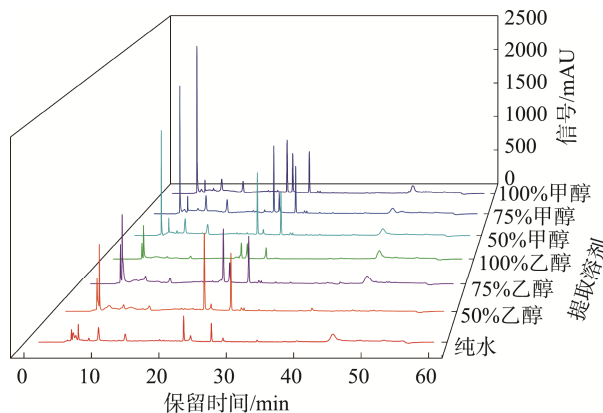


图 2 不同提取溶剂的选择

Fig.2 Selection of different extraction solvents

2.1.3 料液比的选择

选择以 100%甲醇为提取溶剂对云南金花茶进行超声提取, 比较不同料液比对云南金花茶成分提取的影响, 所得图谱如图 3 所示。当料液比从 1:10 g/mL 变为 1:15 g/mL 时, 金花茶样品的提取率变化不明显, 但提取率增加, 而料液比为 1:15 g/mL 和 1:20 g/mL 的金花茶样品提取率相同。不同料液比的图谱中提取率变化不明显, 且随料液比的增加, 成分的提取率无太大变化, 当料液比为 1:15 g/mL 时, 提取出的成分含量最多且分离效果较好, 因此选择料液比为 1:15 g/mL 进行后续试验。

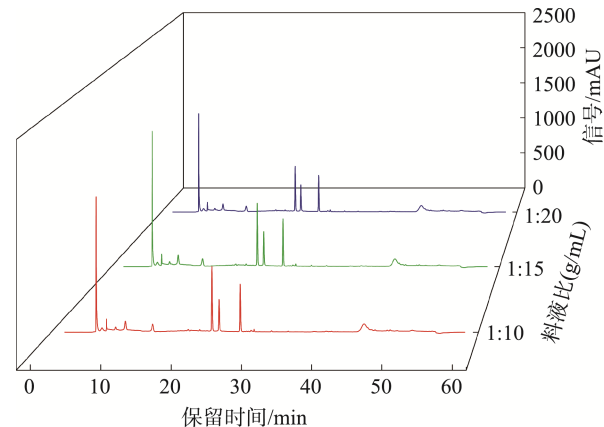


图 3 不同料液比的选择
Fig.3 Selection of different ratio of material to liquid

2.1.4 超声时间的选择

如图 4 所示, 按 1:15 g/mL 的料液比, 用 100%甲醇进行超声提取, 不同超声时间提取的成分大致相同, 但云南金花茶提取率有着较大差别, 与超声 20 min 相比, 超声 30 min 的提取率显著提高, 但随着超声时间的增长, 成分的提取率并无太大变化, 综合考虑, 选择超声时间为 30 min 进行后续试验。

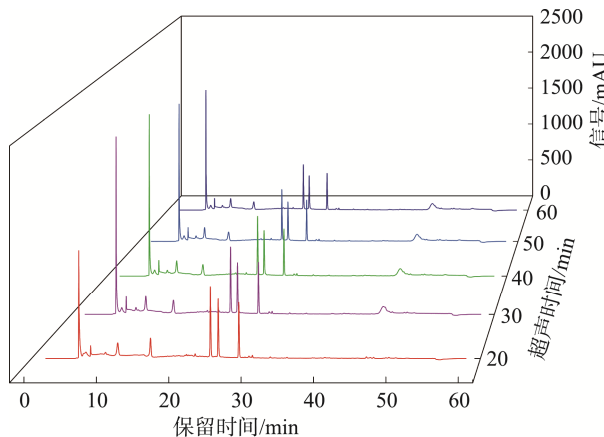


图 4 不同超声时间的选择
Fig.4 Selection of different ultrasonic time

2.2 色谱条件的选择和优化

2.2.1 进样量的选择

按照优化后“1.3.2”的方法制备样品溶液, 比较不同进样量的出峰情况, 所得图谱如图 5 所示, 进样量为 5 μ L 时, 峰高最低, 进样量为 10 μ L 和 15 μ L 时, 峰高相似, 但 10 μ L 进样量提取的物质种类更多, 因此选择进样量为 10 μ L 进行后续试验。

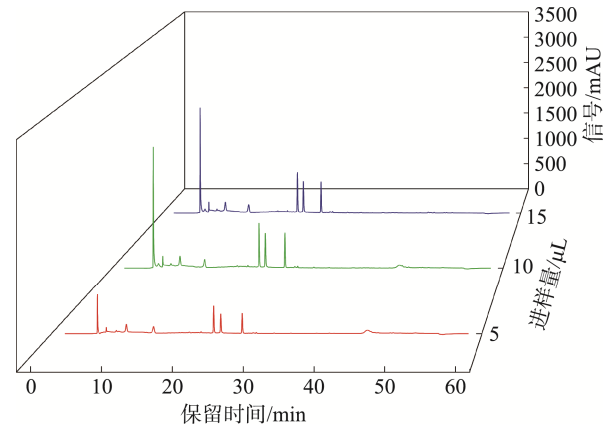


图 5 不同进样量的选择
Fig.5 Selection of different injection quantities

2.2.2 流动相的选择

云南金花茶中富含酚酸, 为了提高分离效果, 避免产生拖尾现象以及得到更好的峰形, 以纯净水、0.1%乙酸水、0.5%乙酸水、0.1%甲酸水、0.5%甲酸水为流动相 A, 甲醇或乙腈为流动相 B, 流动相组合的图谱如图 6 所示。甲醇-水和乙腈-水系统峰形较差, 而乙腈-0.1%乙酸水和乙腈-0.5%乙酸水系统存在拖尾现象, 加入甲酸水后, 主成分出峰数目增加, 当甲酸水浓度从 0.1%升至 0.5%, 成分的出峰数目和分离效果较为理想, 与甲醇-0.5%甲酸水相比, 乙腈-0.5%甲酸水流动相的峰形和分离效果较好, 且无拖尾现象, 因此选择流动相系统为乙腈-0.5%甲酸水进行后续试验。

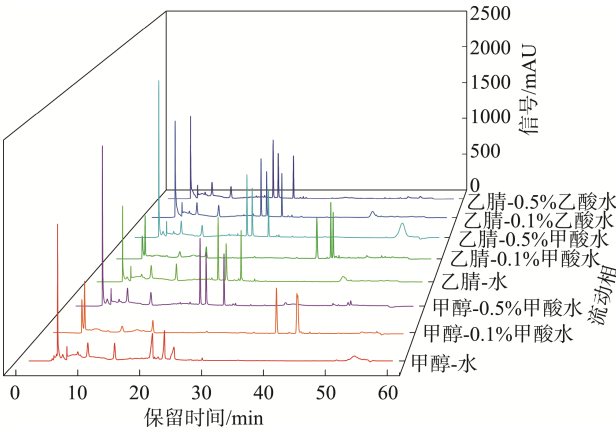


图 6 不同流动相的选择
Fig.6 Selection of different mobile phases

2.2.3 洗脱程序的选择

云南金花茶富含酚酸, 化学成分复杂且极性相差较大, 为获得更好的分离效果和峰形, 以乙腈-0.5%甲酸水为流动相系统, 考察 3 种不同洗脱程序对云南金花茶成分提取的影响。3 种洗脱程序如表 1~3 所示, 由图 7 可知, 3 种洗脱方式的峰高相差不大, 但洗脱程序Ⅲ得到的成分较多, 出峰时间适中, 且分离效果和峰形较好, 因此选择洗脱程序Ⅲ进行后续试验。

表 1 洗脱程序 I
Table 1 Elution program I

时间/min	流动相 A: 0.5%甲酸水溶液/%	流动相 B: 乙腈/%
0.0	90	10
50.0	0	100
50.1	90	10
60.0	90	10

表 2 洗脱程序 II
Table 2 Elution program II

时间/min	流动相 A: 0.5%甲酸水溶液/%	流动相 B: 乙腈/%
0.0	90	10
5.0	90	10
20.0	80	20
40.0	50	50
50.0	25	75
50.1	90	10
60.0	90	10

表 3 洗脱程序 III
Table 3 Elution program III

时间/min	流动相 A: 0.5%甲酸水溶液/%	流动相 B: 乙腈/%
0.0	90	10
5.0	90	10
20.0	70	30
40.0	40	60
50.0	20	80
50.1	90	10
60.0	90	10

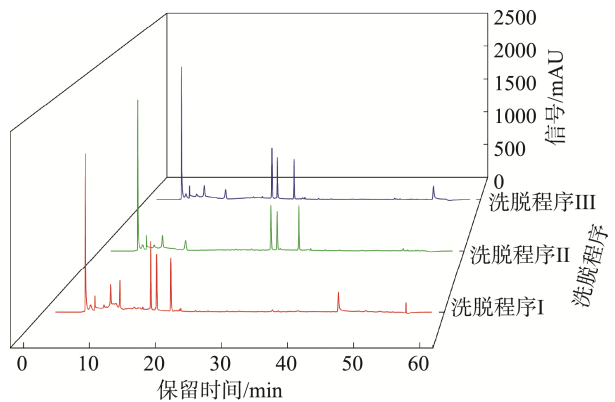


图 7 不同洗脱程序的选择
Fig.7 Selection of different elution procedures

2.2.4 检测波长的选择

按照优化后“1.3.2”的方法制备样品溶液, 考察云南金花茶在不同检测波长下的出峰情况, 由图 8 可知, 在检测波长 220、365 和 380 nm 下有负峰出现, 在检测波长为 220 nm 时, 负峰最为明显, 与其他检测波长的图谱相比, 在检测波长为 254 nm 时, 出峰数目较多, 分离度好, 出峰时间适中, 因此选择检测波长为 254 nm 进行后续试验。

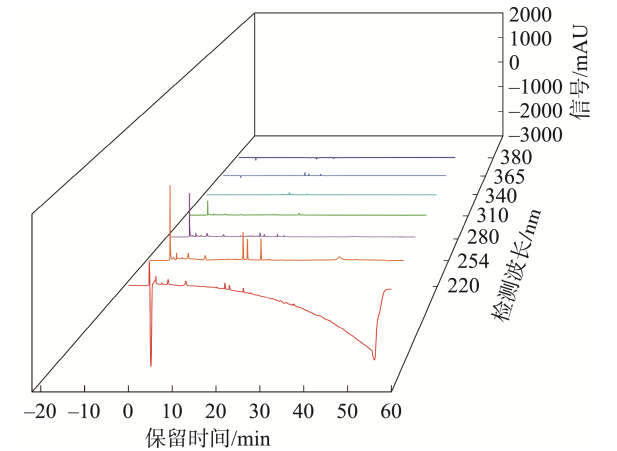


图 8 HPLC 不同检测波长的选择
Fig.8 Selection of different detection wavelengths of HPLC

2.2.5 流速的选择

以洗脱程序Ⅲ进行洗脱, 考察在 254 nm 检测波长下不同流速的出峰情况, 所得图谱如图 9 所示, 当流速为 0.5 mL/min 时, 出峰数目最多, 时间适中, 分离效果好。当流速为 0.7 mL/min 时, 成分种类减少, 含量下降, 分离度低, 表明成分种类及含量并未随流速的增长而增加, 因此选择流速为 0.5 mL/min 进行后续试验。

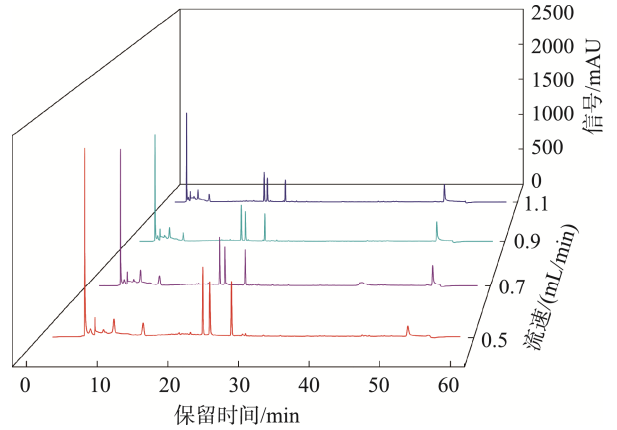


图 9 HPLC 不同流速的选择
Fig.9 Selection of different flow rate of HPLC

2.2.6 柱温的选择

在优化后的色谱条件下, 比较不同柱温在 0.5 mL/min 流速下的出峰情况, 所得图谱如图 10 所示。不同柱温的图

谱并无太大差别, 出峰数目和分离效果相似, 综合考虑, 选择柱温为 30 °C 进行后续试验。

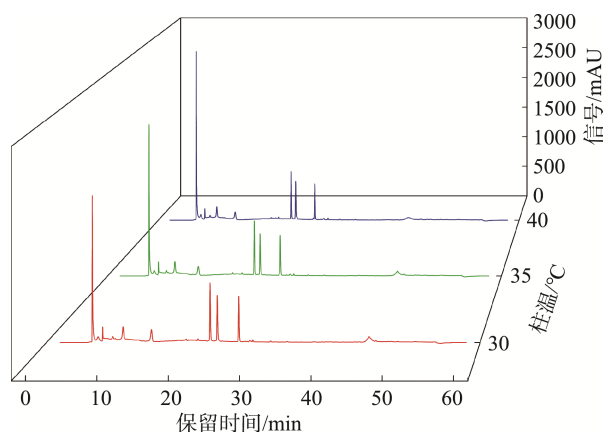


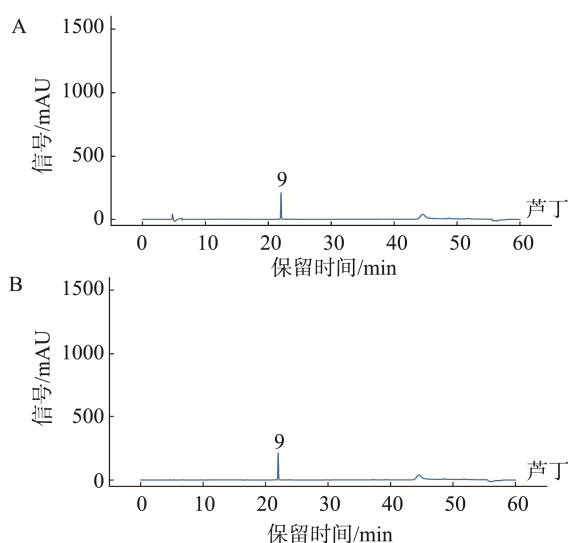
图 10 HPLC 不同柱温的选择

Fig.10 Selection of different column temperatures of HPLC

2.3 方法学考察及参照峰的选择

按优化后的提取条件制成云南金花茶样品溶液, 在最优色谱条件下进行方法学考察, 共有峰的 RRT 和 RPA 的 RSD 值均小于 3%^[27], 表明仪器的精密性合格, 金花茶样品溶液的稳定性及方法的重复性良好。

在优化后的提取工艺和色谱条件下, 取 10 μ L 芦丁标准溶液进样分析, 所得图谱如图 11 所示。由图 11A 可知, 当出峰时间为 5 min 时, 色谱峰有杂峰出现, 表明目标分析物可能受到复杂基质的干扰, 在更换新的流动相后, 标准品芦丁的色谱峰基线较为平稳, 如图 11B 所示; 此外, 由图 11B 可见^[27], 保留时间为 22.103 min 的峰为芦丁, 其分离效果较好, 保留时间居中, 提取量也较高, 选其作为后续指纹图谱分析的参照峰。



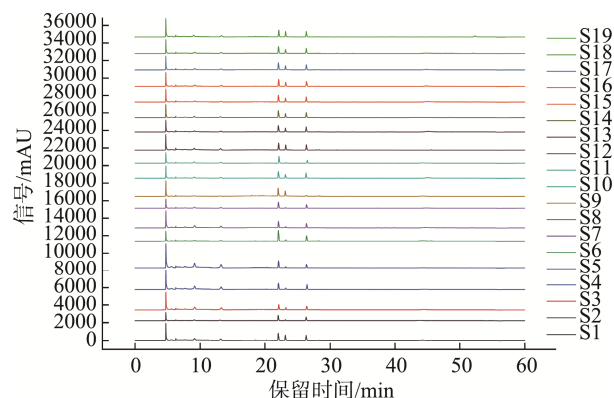
注: A: 未更换流动相前芦丁的色谱图; B: 更换流动相后芦丁的色谱图。

图 11 对照品芦丁的 HPLC 色谱图

Fig.11 HPLC chromatograms of reference rutin

2.4 云南金花茶指纹图谱的建立

在最优提取条件下制备了 19 批来自不同产地不同采摘时间的云南金花茶样品溶液, 在最优色谱条件下, 在 HPLC 中进样检测, 得到 19 批云南金花茶样品的指纹图谱如图 12 所示, 利用中药色谱指纹图谱相似度评价软件对图谱进行分析处理, 得到对照图谱如图 13 所示^[27]。19 批云南金花茶共标定 14 个共有峰, 其中 11 号峰芦丁为参照峰。由图 12 可知, 19 批云南金花茶样品的分离效果较好, 出峰数目较多, 具有指纹图谱的特征。



注: S1~13 为在不同时间采自云南河口南溪镇的云南金花茶样品;
S14~16 为在不同时间采自云南个旧蔓耗镇的云南金花茶样品;
S17~19 为在不同时间采自云南蒙自期路白乡的云南金花茶样品。

图 12 19 批云南金茶花的 HPLC 色谱图

Fig.12 HPLC chromatograms of 19 batches *Camellia fascicularis*

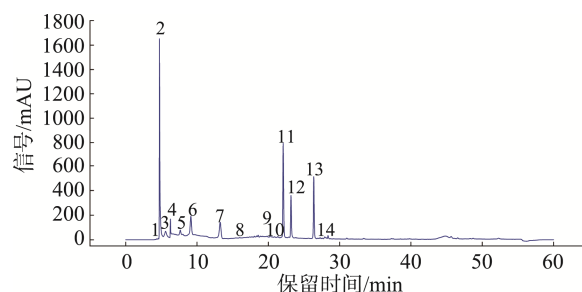


图 13 云南金花茶样品的对照图谱

Fig.13 Reference fingerprint of *Camellia fascicularis*

2.5 相似度评价

利用软件计算 19 批云南金花茶 HPLC 指纹图谱的相似度, 结果见表 4, 计算得到各云南金花茶相似度在 0.888~0.987 之间, 表明不同产地、不同采摘时间的云南金花茶成分存在一定差异^[28-29]。

2.6 聚类分析

应用 SPSS 24.0 软件对 19 批云南金花茶进行 HCA 分析, 所得结果如图 14 所示, 19 批云南金花茶可分为 6 类, S9 为第 1 类, S5 为第 2 类, S3、S4、S7 为第 3 类, S6 为第 4 类, S2、S8 和 S11 为第 5 类, S1、S10、S12、S13、S14、S15、S16、S17、S18 和 S19 为第 6 类。

表 4 19 批云南金花茶样品的相似度评价结果
Table 4 Similarity evaluation results of 19 batches
Camellia fascicularis

样品编号	相似度
S1	0.985
S2	0.943
S3	0.952
S4	0.949
S5	0.917
S6	0.888
S7	0.963
S8	0.955
S9	0.923
S10	0.963
S11	0.957
S12	0.987
S13	0.958
S14	0.983
S15	0.968
S16	0.977
S17	0.971
S18	0.981
S19	0.972

2.7 主成分分析

将 19 批云南金花茶样品的 14 个共有峰峰面积导入

SPSS 24.0 软件中, 进行 PCA 分析^[30], 所得结果如表 5 所示。得到 4 个特征值大于 1 的主成分, 累计方差率为 91.117%, 4 个成分可反映 14 个共有峰信息, 且第一个主成分方差贡献率最大, 为 50.126%。

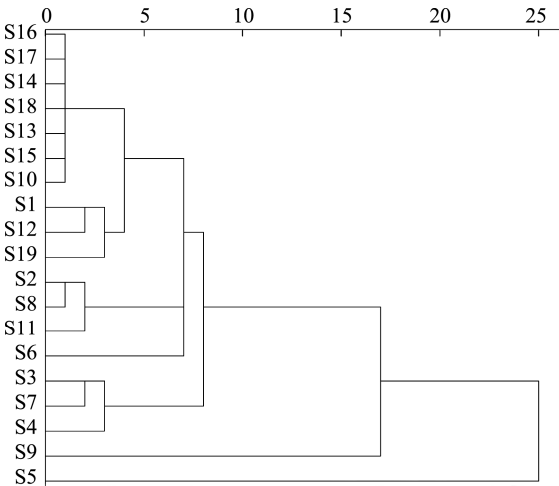


图 14 系统聚类树状图
Fig.14 Dendrogram for the systematic clustering

旋转后的公共因子载荷矩阵如表 6 所示, 图 15 为主成分得分图, 由图 15 可知, 19 批云南金花茶可分为 6 类, 其中 S9 为一类, S5 为一类, S3、S4 和 S7 为一类, S6 为一类, S2、S8 和 S11 为一类, 其余 10 批样品为一类, 分类结果与 HCA 结果基本一致。

表 5 主成分方差分析
Table 5 Analysis of variance for PCA

成分	初始特征值			提取特征值		
	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	7.018	50.126	50.126	7.018	50.126	50.126
2	2.724	19.459	69.585	2.742	19.459	69.585
3	1.964	14.031	83.615	1.964	14.031	83.615
4	1.050	7.502	91.117	1.050	7.502	91.117
5	0.435	3.106	94.224			
6	0.387	2.776	96.990			
7	0.192	1.369	98.358			
8	0.118	0.843	99.202			
9	0.460	0.327	99.529			
10	0.027	0.196	99.725			
11	0.023	0.166	99.891			
12	0.010	0.069	99.960			
13	0.004	0.031	99.991			
14	0.001	0.009	100.000			

表 6 旋转后的因子载荷矩阵
Table 6 Component matrix of rotated factor

峰号	F7	F8	F2	F6	F5	F3	F9	F4	F10	F13	F11	F1	F12	F14
成分														
1	0.978	0.967	0.966	0.964	0.948	0.948	0.908	0.467	0.120	-0.025	-0.108	-0.112	-0.202	-0.389
2	-0.020	0.017	0.192	-0.061	-0.027	-0.015	-0.192	-0.192	0.941	-0.799	0.837	0.050	0.195	0.534
3	-0.118	-0.063	0.095	-0.121	-0.136	0.144	0.125	0.725	0.057	0.454	-0.033	0.016	0.921	0.468
4	-0.105	-0.019	-0.029	-0.193	0.083	-0.140	-0.143	-0.085	0.075	0.263	-0.039	0.968	0.060	0.445

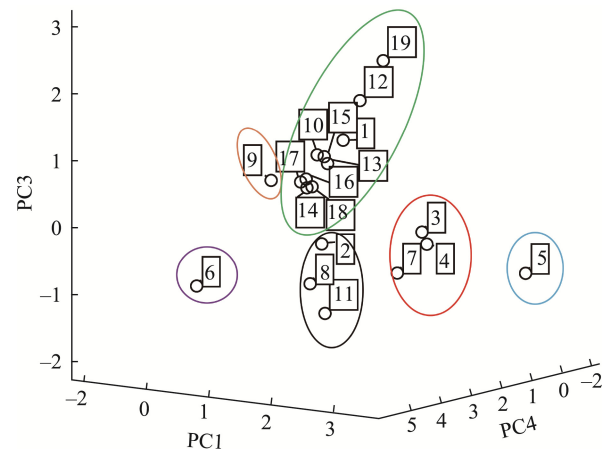


图 15 主成分得分图
Fig.15 Scores plot of PCA

3 结 论

本研究综合考虑了云南金花茶样品的提取率及组分含量,对云南金花茶样品制备过程中的提取方式、提取溶剂、料液比、超声时间等 4 个方面进行了优化。在最优提取条件和色谱条件下,成功建立了 19 批云南金花茶指纹图谱,实现对云南金花茶主物质的初步探究。运用中药色谱指纹图谱相似度评价软件对 19 批云南金花茶共有峰进行评价,19 批云南金花茶样品相似度良好,符合要求。对 19 批云南金花茶进行聚类分析和主成分分析,将其分为 6 类,表明不同产地、不同采摘时间的云南金花茶成分含量间存在一定差异。本研究可为云南金花茶的品质分析及质量控制提供实验依据,为云南金花茶的进一步开发利用奠定基础。

参考文献

[1] HU X, TANG JR, ZHANG GL, *et al.* Optimization of extraction process and antioxidant activities of saponins from *Camellia fascicularis* leaves [J]. J Food Meas Charact, 2021, 15(1): 1–10.

[2] YANG R, GUAN Y, WANG X, *et al.* Antioxidant capacity of phenolics in *Camellia nitidissima* Chi flowers and their identification by HPLC Triple TOF MS/MS [J]. PloS One, 2018, 13(4): 1–20.

[3] WANG MT, ZHANG GL, XIN PY, *et al.* In vitro propagation of *Camellia fascicularis*: A plant species with extremely small populations [J]. Can J Plant Sci, 2020, 100(2): 202–208.

[4] 汪梦婷, 张贵良, 刘云, 等. 云南金花茶矿质元素及功能成分分析[J]. 黑龙江农业科学, 2018(4): 118–121.

WANG MT, ZHANG GL, LIU Y, *et al.* Analysis of the mineral element and nutrient components of *Camellia fascicularis* [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2018(4): 118–121.

[5] SOKOL'SKIĬ IN, BAN'KOVSKII AI, ZINKEVICH EP. Triterpene glycosides from *Camellia oleifera* and *Camellia sasanqua* [J]. Chem Nat Compd, 1975, 1: 120–103.

[6] 高慧, 何秋梅, 闫国跃, 等. 金花茶不同部位化学成分差异分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(24): 9539–9548.

GAO H, HE QM, YAN GY, *et al.* Analysis of the differences in chemical components from different parts of *Camellia nitidissima* C. W. Chi [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(24): 9539–9548.

[7] QI J, SHI RF, YU JM, *et al.* Chemical constituents from leaves of *Camellia nitidissima* and their potential cytotoxicity on SGC7901 cells [J]. Chin Herb Med, 2016, 8(1): 80–84.

[8] 苏琳, 莫建光, 韦英亮, 等. 金花茶叶皂苷类成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(5): 877–879.

SU L, MO JG, WEI YL, *et al.* Chemical constituents of saponins from leaves of *Camellia euphlebia* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2012, 43(5): 877–879.

[9] 刘云, 赵平, 卞家亭, 等. 簇蕊金花茶叶片营养成分分析与评价[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(5): 146–154.

LIU Y, ZHAO P, BIAN JT, *et al.* Nutritional analysis and evaluation of *Camellia fascicularis* leaves [J]. J Northwest A F Univ (Nat Sci Ed), 2021, 49(5): 146–154.

[10] WANG WX, LIU HY, WANG ZN, *et al.* Phytochemicals from *Camellia nitidissima* Chi inhibited the formation of advanced glycation end-products by scavenging methylglyoxal [J]. Food Chem, 2016, 205: 204–211.

[11] OKU H, OGAWA Y, IWAOKA E, *et al.* Preventive effects of the extract of kinka-cha, a folk tea, on a rat model of metabolic syndrome [J]. J Nat Med, 2011, 65: 610–616.

[12] SERINO A, SALAZR G. Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease [J]. Nutrients, 2018, 11(1): 53.

[13] 陈瑶, 龚苏晓, 徐旭, 等. 金花茶化学成分和药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(3): 575–582.

CHEN Y, GONG SX, XU X, *et al.* Research progress on chemical constituents and pharmacological studies of *Camellia nitidissima* [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(3): 575–582.

[14] WILLAMSON G. The role of polyphenols in modern nutrition [J]. Nutr Bull, 2017, 42(3): 226–235.

[15] 何旭华, 石志娇, 彭小伟, 等. 云南金花茶叶不同极性提取物的抗氧化

- 活性分析[J]. 林产化学与工业, 2022, 42(5): 61–68.
- HE XH, SHI ZJ, PENG XW, *et al.* Antioxidant activities analysis of different polar solvent extracts from *Camellia fascicularis* H. T. Chang [J]. Chem Ind For Prod, 2022, 42(5): 61–68.
- [16] GAO MZ, PENG XW, TANG JR, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Camellia fascicularis* polyphenols via attenuation of NF- κ B and MAPK pathways in LPS-induced THP-1 macrophages [J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 851–864.
- [17] 罗昭润, 殷爱华, 万利鑫, 等. 金花茶的花茶与叶茶制作技术[J]. 福建农业科技, 2016(2): 50–51.
- LUO ZR, YIN AIH, WANG LX, *et al.* Manufacturing technology for scented and leaf tea products of *Camellia nitidissima* [J]. Fujian Agric Sci Tech, 2016(2): 50–51.
- [18] 覃中凤, 梁家亮, 李宝生, 等. 金花茶浓缩液的应用探析[J]. 现代农业科技, 2020(23): 223–224.
- QIN ZF, LIANG JL, LI BS, *et al.* Analysis on the application of concentrated solution of *Camellia nitidissima* C. W. Chi [J]. Mod Agric Sci Technol, 2020(23): 223–224.
- [19] 刘云, 司徒颖, 杨敏, 等. 云南簇蕊金花茶饮料的研制[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(3): 97–102.
- LIU Y, SI JY, YANG M, *et al.* Development of *Camellia fascicularis* H. T. Chang beverage from Yunnan [J]. Storage Process, 2017, 17(3): 97–102.
- [20] 程金生, 钟兰照, 苗建银, 等. 基于金花茶天然精油的抗紫外、保湿面霜研究[J]. 广州化工, 2021, 49(15): 86–88, 140.
- CHENG JS, ZHONG LZ, MIAO JY, *et al.* Study on anti-ultraviolet and moisturizing facial cream based on natural essential oil of *Camellia nitidissima* Chi [J]. Guangzhou Chem Ind, 2021, 49(15): 86–88, 140.
- [21] YANG DZ, AN YQ, JIANG XL, *et al.* Development of a novel method combining HPLC fingerprint and multi-ingredients quantitative analysis for quality evaluation of traditional Chinese medicine preparation [J]. Talanta, 2011, 85(2): 885–890.
- [22] TISTAERT C, DEJAEGHER B, HEYDEN YV. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review [J]. Anal Chim Acta, 2011, 690(2): 148161.
- [23] WANG C, ZHANG CX, SHAO CF, *et al.* Chemical fingerprint analysis for the quality evaluation of deepure instant Pu-erh tea by HPLC combined with chemometrics [J]. Food Anal Methods, 2016, 9: 3298–3309.
- [24] LIU Y, KAN H, FAN FY, *et al.* Microwave-assisted extraction and antioxidant activities of polyphenols from *Camellia fascicularis* leaves [J]. Curr Top Nutraceut R, 2018, 17(2): 164–171.
- [25] LIU Y, LUO XL, LAN ZQ, *et al.* Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant capacities of flavonoids from *Camellia fascicularis* leaves [J]. CyTA J Food, 2017, 16(1): 105–112.
- [26] PENG XW, HE XH, TANG JR, *et al.* Evaluation of the *in vitro* antioxidant and antitumor activity of extracts from *Camellia fascicularis* leaves [J]. Front Chem, 2022, 10: 1035949.
- [27] GAO MZ, TANG JR, DENG J, *et al.* Application of polyphenolic compound-based HPLC fingerprint in Chinese golden camellias (*Camellia sect. Chrysanth*) [J]. Food Control, 2024, 161: 110414.
- [28] 田光卉, 王志允, 张彦昕, 等. 金花茶花的指纹图谱建立、成分鉴定及体外抗氧化活性研究[J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2387–2394.
- TIAN GH, WANG ZY, ZHANG YX, *et al.* Establishment of fingerprint, component identification, and *in vitro* antioxidant activity of *Camellia nitidissima* [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(11): 2387–2394.
- [29] 况成裕, 姜立会, 李继莲, 等. 不同产地见血飞药材指纹图谱研究[J]. 食品与药品, 2013, 15(4): 234–236.
- KUANG CY, JIANG LH, LI JL, *et al.* Study on fingerprint of *Caesalpinia cucullata* Roxb. from different producing areas [J]. Food Drug, 2013, 15(4): 234–236.
- [30] DUO JC, LI CX, XU XL, *et al.* HPLC fingerprint analysis of *Aconitum flavum* Hand.-Mazz. from different areas and content determination of four alkaloids [J]. Nat Prod Res Dev, 2023, 35: 200–207.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)

作者简介



徐芳华, 硕士研究生, 主要研究方向为植物资源利用。

E-mail: xufanghua2023@163.com



刘云, 博士, 教授, 主要研究方向为植物资源利用。

E-mail: liuyun0402001@163.com